

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Pathologischen Institut der Universität München

Direktor: Prof. Dr. M. Eder

GENERATIONSZEITZYKLUS

N-BUTYL-N-(4-HYDROXYBUTYL)-NITROSAMIN-INDUZIERTER
TRANSITIONALZELLCARCINOME DER RATTENHARNBLASE

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Ulrich Mayr

aus

Pfronten/Allgäu

Jahr

1976

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

1. Berichterstatter:	Prof. Dr. Schauer
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. Eder
Dekan:	Prof. Dr. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	1.6.1976



INHALTSVERZEICHNIS

Seite

II. MEINEN ELTERN

1. MEIN VATER	7
2. MEINE MUTTER	11
3. MEINE ELTERN	15
4. MEINE ELTERN	19
5. MEINE ELTERN	23
6. MEINE ELTERN	27
7. MEINE ELTERN	31
8. MEINE ELTERN	35
9. MEINE ELTERN	39
10. MEINE ELTERN	43
11. MEINE ELTERN	47
12. MEINE ELTERN	51
13. MEINE ELTERN	55
14. MEINE ELTERN	59
15. MEINE ELTERN	63
16. MEINE ELTERN	67
17. MEINE ELTERN	71
18. MEINE ELTERN	75
19. MEINE ELTERN	79
20. MEINE ELTERN	83
21. MEINE ELTERN	87
22. MEINE ELTERN	91
23. MEINE ELTERN	95
24. MEINE ELTERN	99
25. MEINE ELTERN	103
26. MEINE ELTERN	107
27. MEINE ELTERN	111
28. MEINE ELTERN	115
29. MEINE ELTERN	119
30. MEINE ELTERN	123
31. MEINE ELTERN	127
32. MEINE ELTERN	131
33. MEINE ELTERN	135
34. MEINE ELTERN	139
35. MEINE ELTERN	143
36. MEINE ELTERN	147
37. MEINE ELTERN	151
38. MEINE ELTERN	155
39. MEINE ELTERN	159
40. MEINE ELTERN	163
41. MEINE ELTERN	167
42. MEINE ELTERN	171
43. MEINE ELTERN	175
44. MEINE ELTERN	179
45. MEINE ELTERN	183
46. MEINE ELTERN	187
47. MEINE ELTERN	191
48. MEINE ELTERN	195
49. MEINE ELTERN	199
50. MEINE ELTERN	203
51. MEINE ELTERN	207
52. MEINE ELTERN	211
53. MEINE ELTERN	215
54. MEINE ELTERN	219
55. MEINE ELTERN	223
56. MEINE ELTERN	227
57. MEINE ELTERN	231
58. MEINE ELTERN	235
59. MEINE ELTERN	239
60. MEINE ELTERN	243
61. MEINE ELTERN	247
62. MEINE ELTERN	251
63. MEINE ELTERN	255
64. MEINE ELTERN	259
65. MEINE ELTERN	263
66. MEINE ELTERN	267
67. MEINE ELTERN	271
68. MEINE ELTERN	275
69. MEINE ELTERN	279
70. MEINE ELTERN	283
71. MEINE ELTERN	287
72. MEINE ELTERN	291
73. MEINE ELTERN	295
74. MEINE ELTERN	299
75. MEINE ELTERN	303
76. MEINE ELTERN	307
77. MEINE ELTERN	311
78. MEINE ELTERN	315
79. MEINE ELTERN	319
80. MEINE ELTERN	323
81. MEINE ELTERN	327
82. MEINE ELTERN	331
83. MEINE ELTERN	335
84. MEINE ELTERN	339
85. MEINE ELTERN	343
86. MEINE ELTERN	347
87. MEINE ELTERN	351
88. MEINE ELTERN	355
89. MEINE ELTERN	359
90. MEINE ELTERN	363
91. MEINE ELTERN	367
92. MEINE ELTERN	371
93. MEINE ELTERN	375
94. MEINE ELTERN	379
95. MEINE ELTERN	383
96. MEINE ELTERN	387
97. MEINE ELTERN	391
98. MEINE ELTERN	395
99. MEINE ELTERN	399
100. MEINE ELTERN	403

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

Seite

I.	EINLEITUNG	1
II.	MATERIAL UND METHODIK	3
III.	ERGEBNISSE	7
	1. Morphologische Befunde	7
	2. Proliferationskinetische Befunde	9
IV.	DISKUSSION	13
V.	ZUSAMMENFASSUNG	21
VI.	LITERATURVERZEICHNIS	23

I. EINLEITUNG

Tierexperimentelle Untersuchungen während der Cancerogenese der Harnblase führten zu der Erkenntnis, daß sich Transitionalzellcarcinome in der weit überwiegenden Mehrzahl aus zunächst gutartig erscheinenden Papillomen über einen schrittweise ablaufenden Transformationsprozeß entwickeln (Kunze, Schauer und Schatt 1976). Als erstes morphologisch faßbares Stadium einer beginnenden malignen Entartung wurden innerhalb sonst gutartig erscheinender Papillome fokale scharf umschriebene Zellatypien beobachtet. Aus diesen atypischen Urothelzellbezirken entwickelten sich in einem weiteren Transformationsstadium Carcinomata in situ, die durch eine gesteigerte Zellatypie und durch ein plumpes Vorwachsen der Zellverbände gegen das Stroma gekennzeichnet waren. In einem letzten Transformationsstadium konnte dann in diesen Bezirken herdförmig ein invasives Wachstum nachgewiesen werden. Autoradiographisch ergab sich, daß der ^3H -Thymidin-Markierungsindex in den Transformationsstadien um das mehrfache höher war, als in den umgebenden morphologisch gutartig erscheinenden Papillomstrukturen, wobei die Markierung in Carcinomata in situ um das doppelte höher war als in den Atypien (Kunze, Schauer und Schatt 1976). Die Generationszeit sowie ihre Teilphasen waren dagegen in atypischen Urothelzellbezirken und Carcinomata in situ nahezu identisch (Kunze, Schauer und Fischer 1976).

In der vorliegenden Untersuchungsreihe sollte das Proliferationsverhalten vollentwickelter, gut differenzierter Transitionalzellcarcinome geprüft und mit dem der Transformationsstadien verglichen werden. Zur Charakterisierung des proliferationskinetischen Verhaltens der Carcinomzellen wurde der ^3H -Thymidin-Markierungsindex nach 1-stündiger radioaktiver Versuchszeit sowie nach 54-stündiger intermittierender Dauermarkierung, der Mitoseindex und der Generationszeitzyklus nach der Prozentmarkierten-Mitose-Methode (Quastler und Sherman 1959) bestimmt. Die Transitionalzellcarcinome wurden durch orale Gabe von N-Butyl-N- (4-Hydroxybutyl)-Nitrosamin induziert.

II. MATERIAL UND METHODIK

Insgesamt 250 weiblichen Wistar-Ratten (Inzuchtstamm des Pathologischen Instituts der Universität München, Ausgangsgewicht zwischen 180 und 280 g) wurde N-Butyl-N-(4-Hydroxybutyl)-Nitrosamin (BBN; Firma Schuchardt, München) im Trinkwasser in einer Dosierung von 20 mg/kg täglich 80 Tage lang (Expositionszeit) zugeführt. Anschließend wurde das Cancerogen abgesetzt. Die Tiere wurden im klimatisierten Tierstall bei 20° - 22° C frei von pathogenen Keimen mit Altrominkost gehalten. Nach einer Gesamtversuchsdauer von 150 bzw. 250 Tagen (Induktionszeit) wurden die Ratten im Ätherrausch durch Dekapitation getötet.

Zur Bestimmung des ^3H -Thymidin-Markierungsindex (^3H -TdR-Index in %) wurde 36 Tieren eine Stunde vor Tötung tritiiertes Thymidin (The Radiochemical Centre Amersham, England; spezifische Aktivität: 5 mCi/Mol;) zwischen 9 und 10 Uhr in einer Dosierung von 0,1 mCi/100 g intraperitoneal injiziert.

Zur Ermittlung des Anteils DNS-synthetisierender Zellen an der Gesamtpopulation innerhalb gut differenzierter Transitionalzellcarcinome nach intermittierender Dauermarkierung wurde insgesamt 16 Wistar-Ratten alle 6 Stunden 0,1 mCi/100 g ^3H -Thymidin über einen Gesamtzeitraum von 54 Stunden intraperitoneal appliziert.

Zur Bestimmung des Generationszeitzyklus in gut differenzierten Übergangsepithelcarcinomen nach der Prozentmarkierten-Mitose-Methode (Quastler und Shermann 1959) wurde insgesamt 23⁴ Tieren während eines Zeitraumes zwischen 1 - 30 Stunden in stündlichen Abständen tritiiertes Thymidin in einer Dosierung von 0,1 mCi/100 g intraperitoneal injiziert.

Die Anzahl der ausgewerteten Tiere war in allen Gruppen wesentlich geringer als die ursprünglich im Vergleich angesetzten Ratten, da bei weitem nicht alle zum Zeitpunkt der Tötung Transitionalzellcarcinome aufwiesen.

Zur Herstellung von Autoradiogrammen wurden ca. 5 μ dicke Paraffinschnitte mit Stripping - Film Kodak AR 10 überzogen. Vor Aufziehen des Stripping-Films wurden die Objektträger in Chromalaungelatine-Lösung eingetaucht (0,5 g Gelatine; 0,05 g Chromalaun; 100 ml Aqua dest.). Die Expositionszeit betrug 14 Tage bei plus 4⁰ C. Die Entwicklerlösung bestand aus 1,8 g Amidol, 7,2 g Natriumsulfit, 2,2 ml 10 % Kaliumbromid und 400 ml Aqua dest.. Die Dauer der Entwicklung betrug 15 Minuten. Anschließend wurden die Schnitte 20 Minuten fließend gewässert. Die Fixierlösung bestand aus 50 %iger wässriger Thiosulfatlösung. Die Dauer der Fixierung belief sich auf 30 Minuten. Nach anschließender fließender Wässerung wurden die Schnitte mit Hämalan (Mayer) gefärbt.

Ausgewertet wurden nur gut differenzierte Transitionalzellcarcinome. Dabei wurden ^3H -Thymidin-markierte Zellen bzw. Mitosen bei kleineren Tumoren im Gesamtbereich an mehreren Serien- bzw. Stufenschnitten und bei sehr großen Tumoren in Teilarealen an verschiedenen Stellen bei Ölimmersion ausgezählt. Bei der Ermittlung des ^3H -TdR-Index nach einstündiger radioaktiver Versuchszeit wurden pro Carcinom jeweils 10 000 Zellen ausgezählt. Als markiert galten diese dann, wenn sie mindestens 5 Silberkörner aufwiesen. Insgesamt wurden 10 Tiere ausgewertet. Bei der Ermittlung des Prozentsatzes DNS - synthetisierender Zellen an der Gesamtpopulation wurden pro Carcinom 10 000 Zellen bei 10 Tieren ausgezählt. Die Generationszeit und ihre Teilphasen wurden nach der Prozent-markierten-Mitose-Methode (Quastler und Sherman 1959) bestimmt, die es erlaubt, auch bei exponentiellem Wachstum die Generationszeit und ihre Teilphasen direkt aus dem ermittelten Prozentsatz markierter Mitosen als Funktion der Zeit nach einmaliger Markierung mit tritiiertem Thymidin abzulesen.

Pro Tier wurden mindestens 100 Mitosen ausgezählt. Dabei wurden nur Mitosen von der späten Prophase bis zur frühen Telophase berücksichtigt. Die Anzahl der erforderlichen Mitosen für die einzelnen Stundenwerte wurden, falls es notwendig war, durch Auszählung mehrerer Tumoren bei verschiedenen Tieren erreicht. Dadurch ist die Anzahl der ausgewerteten Ratten erheblich höher als aus der Kurve ersichtlich (Abb. 2). Zur Aufstellung der Kurve Prozent-markierter-

Mitosen kamen insgesamt 64 Tiere zur Auswertung. Die Prozent-markierte-Mitose-Kurve wurde durch das Verhältnis ^3H -markierter-Mitosen zu nicht markierten Mitosen bestimmt. Als markiert galten Mitosen, die mindestens 5 Silberkörner aufwiesen.

Aus der Kurve Prozent-markierter-Mitosen als Funktion der radioaktiven Versuchszeit wurden folgende Zyklusphasen bestimmt:

1. Mittlere Generationszeit (T_c): Zeitlicher Abstand der beiden Markierungsgipfel.
2. Mittlere DNS-Synthesezeit (T_S): Zeitlicher Abstand der Schnittpunkte des auf- und absteigenden Schenkels der Kurve bei einem Markierungsindex von 50 %.
3. Mittlere postsynthetische-prämitotische Phase und Mitosedauer ($TG_2 + TM$): Zeitlicher Abstand zwischen Zeitpunkt der Injektion und Erreichen eines 50 %igen Markierungsniveaus.
4. Die mittlere postmitotische-präsynthetische Phase (TG_1) wurde durch Subtraktion von T_c von ($TG_2 + TM$) und T_S ermittelt.

III. E R G E B N I S S E

1. Morphologische Befunde

Von 250 der insgesamt im Versuch eingesetzten Wistar-Ratten wiesen 64 invasiv wachsende Transitionalzellcarcinome auf. Bei einzelnen Tieren war es durch das Carcinomwachstum zu einer hochgradigen Auftreibung der gesamten Harnblase gekommen. Der Durchmesser der größten Harnblase betrug 1,5 cm (Durchmesser einer normalen Harnblase etwa 0,5 cm). In diesen Fällen war das Lumen der Harnblase hochgradig eingeengt und nur noch schlitzförmig zu erkennen. Die Differenzierung der beobachteten Transitionalzellcarcinome war unterschiedlich: neben gut differenzierten fanden sich alle Übergänge zu wenig differenzierten Übergangsepithelcarcinomen. Die gut differenzierten Transitionalzellcarcinome waren durch ein weitgehend uniformes Zellbild charakterisiert (Abb. 1). Die Kerne waren rund bis oval, wiesen nur geringgradig unregelmäßige Chromatinstrukturen auf und besaßen meistens nur einen wenig prominenten Nukleolus. Das Cytoplasma war reichlich ausgebildet. Die mitotische Aktivität war gering bis mäßig. Nur selten kamen atypische Mitosen vor. Die wenig differenzierten Transitionalzellcarcinome waren durch ausgeprägte nukleare und cytoplasmatische Abnormalitäten charakterisiert. Die Nukleolen kamen meist in der Mehrzahl vor, waren meistens prominent und oft bizarr geformt. Die Anzahl der Mitosen waren

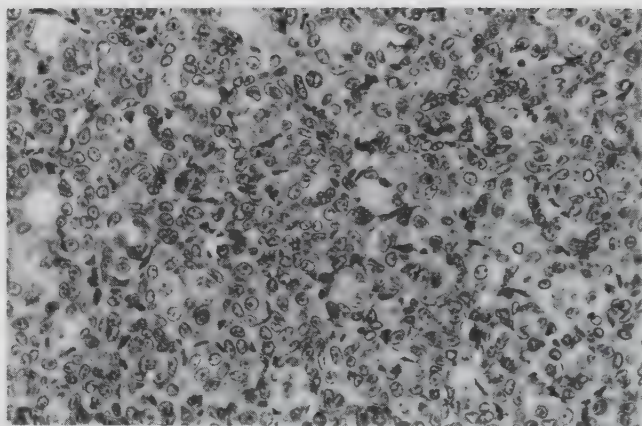


Abb. 1: Gut differenziertes Transitionalzellcarcinom
mit minimaler Stromaentwicklung und weit-
gehend uniformen Kernbild. Geringgradige
mitotische Aktivität.
Gesamtversuchsdauer: 250 Tage
Vergrößerung: 190-fach

im Vergleich zu den gut differenzierten Übergangsepithelcarcinomen wesentlich höher; häufig waren dabei die Mitosen atypisch. Nicht selten fiel eine starke Basophilie des Cytoplasmas auf. Oft waren ausgedehnte Nekrosen nachweisbar. In der Regel wiesen die wenig differenzierten Transitionalzellcarcinome ein hochgradig invasives Wachstum auf mit Durchsetzung der gesamten Harnblasenwandung. Die Abstammung vom Übergangsepithel war gelegentlich schwer zu erkennen.

2. Proliferationskinetische Befunde

1. ^3H -TdR-Index in gut differenzierten Transitionalzellcarcinomen nach einstündiger radioaktiver Versuchszeit.

Nach einer radioaktiven Versuchszeit von einer Stunde ergab sich in 10 gut differenzierten Transitionalzellcarcinomen ein durchschnittlicher ^3H -TdR-Index von 8,19 % (Tabelle 1). Die ermittelten Werte differierten von Tier zu Tier erheblich. Auch innerhalb des gleichen Carcinoms ergaben sich teilweise von Areal zu Areal große Unterschiede, wie aus den hohen Schwankungsbreiten aus dem Mittelwert ersichtlich ist. Der durchschnittliche Mitoseindex betrug 0,67 %.

2. ^3H -TdR-Index nach intermittierender 54-stündiger Dauermarkierung.

Nach 54-stündiger Dauermarkierung ergab sich in gut differenzierten Transitionalzellcarcinomen ein durchschnittlicher Markierungsindex von 60 % (Einzelwerte: 68 %, 67 %, 67 %, 41 %). Auch bei der Ermittlung des Prozentsatzes markierter Zellen an der Gesamtpopulation ergab sich eine große Schwankungsbreite der Markierung innerhalb des gleichen Carcinoms.

3. Die Generationszeit und ihre Teilphasen

Bereits eine Stunde nach Injektion des tritiierten Thymidins war eine geringe Anzahl von markierten Mitosen nachweisbar (Abb. 2). Nach 4 Stunden waren 90 % und nach 6 Stunden nahezu 100 % der Mitosen markiert. Bis zur 8. Stunde wurde das hohe Markierungsniveau beibehalten. Danach nahm der prozentuale Anteil markierter Mitosen kontinuierlich ab. 15 Stunden nach Applikation des Thymidins wiesen nur noch 4 % der Mitosen Silberkörner auf. Nach 17 Stunden zeichnete sich bereits wieder ein Anstieg der Kurve ab. Nach etwa 24 Stunden radioaktiver Versuchszeit wurde ein zweiter Markierungsgipfel mit 25 % festgestellt. Nach 28 Stunden war bereits wieder eine deutlich absteigende Tendenz erkennbar.

Aus der Prozent-markierten-Mitosekurve ergab sich somit eine Generationszeit von etwa 16 - 18 Stunden. Die mittlere DNS-Synthesephase betrug etwa 8 Stunden. Die prämitotische-postsynthetische Phase und die Mitosephase ($TG_2 + TM$) _{mittel} dauerte 2 - 3 Stunden. Daraus errechnete sich eine mittlere Dauer von 6 - 7 Stunden für die postmitotische-präsynthetische Phase (TG_1) (Abb. 2).

Tier	^3H -TdR-Index (%) mit Standardabweichung	Mitose-Index
1	3,09 $\pm$ 3,81	0,16
2	1,83 $\pm$ 2,35	0,08
3	8,67 $\pm$ 3,52	0,33
4	13,93 $\pm$ 5,41	1,11
5	13,58 $\pm$ 5,95	1,29
6	20,50 $\pm$ 7,06	1,48
7	8,93 $\pm$ 4,20	0,97
8	1,47 $\pm$ 5,15	0,01
9	2,93 $\pm$ 2,06	0,35
10	7,01 $\pm$ 4,03	0,93
Mittelwert:	8,19	0,67

Tab. 1: ^3H -TdR-Index (%) und Mitose-Index (%) in gut differenzierten Transitionalzellcarcinomen nach 1-stündiger radioaktiver Ver-
suchszeit.

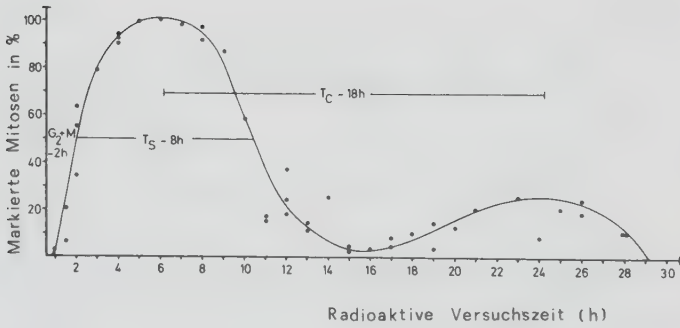


Abb. 2: Generationszeit und ihre Teilphasen in
gut differenzierten Transitionalzell-
carcinomen
(Prozent-markierte-Mitose-Methode)

IV. D I S K U S S I O N

Die normale Harnblasenschleimhaut des Menschen und kleiner Laboratoriumstiere, wie Ratte, Maus, Meer-schweinchen und Hamster weisen eine äußerst geringe Zellerneuerungsrate auf. Autoradiographische Untersuchungen mit tritiiertem Thymidin ergaben z. B. bei der Ratte einen mittleren ^3H -Thymidin-Index je nach Autor zwischen 0,06 und 0,5 % (Messier und Leblond 1960; Schreiber et al. 1969; Locher und Cooper 1970; Miyakawa und Yoshida 1973; Kunze, Schauer und Krüsmann 1975) und bei der Maus von 0,2 bis 1,0 % (Nettesheim und Oehlert 1962; Levi et al. 1969; Campobasso und Berrino 1971). Für die Harnblase des Menschen wurde ein Markierungsindex von 0,30 % ermittelt (Battiflora et al. 1969).

Die Zellerneuerung geht dabei, wie vor allem quantitative autoradiographische Untersuchungen von Kunze, Schauer und Krüsmann (1975) gezeigt haben, von der Basalschicht aus, die bei der Ratte einen ^3H -TdR-Index von 0,49 % aufwies, während die suprabasalen Zellen dagegen lediglich einen Markierungsindex von 0,09 % zeigten. In der Basalzellschicht lag nach einer Stunde radioaktiver Versuchszeit die Mehrheit der markierten Zellen (80,9 %). Nach intermittierender 54-stündiger Dauermarkierung ergab sich darüber hinaus lediglich an der Gesamtpopulation ein Anteil DNS-synthetisierender Zellen von 1,22 %.

Unter pathologischen Bedingungen kann jedoch die Proliferationsaktivität bzw. die Regenerationsfähigkeit außerordentlich groß sein. Dies ergibt sich aus Untersuchungen nach mechanischer Traumatisierung der Harnblasenschleimhaut (Tucci und Haralambidis 1963; Walker 1969; Clayson und Cooper 1970; Vahlensiek 1971). Chemische Substanzen wie 4-Etylsulphonylnaphthalen-1-Sulphonamid (Levi et al. 1969) und Cyclophosphamid (Koss 1967; Locher und Cooper 1970; Campobasso und Berrino 1972) sind ebenso in der Lage die Proliferationsaktivität zu erhöhen. Schreiber (1969) beobachtete, daß Strahlen eine Erhöhung des Markierungsindex hervorrufen. Auch während der Cancerogenese zeigt das Urothel in scharf umschriebenen präneoplastischen Enzymdefektbezirken der alkalischen Phosphatase eine hohe Proliferationsaktivität. So wurde in derartigen Bereichen nach Applikation von Dibutylnitrosamin (Kunze und Schauer 1971) ein ^3H -TdR-Index von 6,2 %, nach Gabe von N-Butyl-N-(4-hydroxybutyl)-Nitrosamin von 8,1 % und nach Verabreichung von N-4-(5-Nitro-2-Furyl)-2-Thiazoly Formamid von 6,1 % ermittelt (Kunze, Schauer und Krüsmann 1975).

Autoradiographische Untersuchungen in Transformationsstadien von Papillomen ergaben nach 1-stündiger radioaktiver Versuchszeit in fokal atypischen Zellbezirken einen ^3H -TdR-Index von 7,6 %, in Carcinomata in situ von 14,3 %, während die umgebende, lichtoptisch gutartig erscheinende Papillomstruktur ein ^3H -TdR-Index von 1,8 % bzw. 1,9 % aufwies (Kunze, Schauer und Schatt 1976).

Untersuchungen über den Generationszeitzyklus der normalen Harnblasenschleimhaut bzw. des neoplastischen Urothels liegen nicht vor. Das hängt vor allem damit zusammen, daß die normale Harnblasenschleimhaut eine äußerst geringe Mitoserate aufweist und somit eine Ermittlung des Generationszeitzyklus nach der Prozent-markierten-Mitose-Methode äußerst zeitaufwendig wäre.

Untersuchungen von Kunze, Schauer und Fischer (in Vorbereitung) hatten gezeigt, daß die Generationszeit in atypischen Urothelbezirken innerhalb von Papillomen 17 Stunden und in Carcinomata in situ ca. 16 Stunden betrug. Im einzelnen wurde für Atypien eine DNS-Synthesephase-Dauer von ca. 9 Stunden und für die Carcinomata in situ ca. 8 Stunden ermittelt. Die $(TG_2 + TM)_m$ betrug 3,5 bzw. 3 Stunden.

Die eigenen Untersuchungen ergaben für gut differenzierte Transitionalzellcarcinome eine Generationszeit von etwa 16 - 18 Stunden. Im einzelnen betrug die DNS-Synthesephase ca. 8 Stunden, die $(TG_2 + TM)_m$ ca. 2 - 3 Stunden und TG_1 ca. 6 - 7 Stunden. Die Ermittlung der Generationszeit aus 3H -TdR-Index bzw. Mitoseindex und DNS-Synthesezeit (Leblond et al. 1955; Regele und Lunglmayer 1969; Schreiber et al. 1969) erscheint sehr problematisch, da die Voraussetzung für die Anwendung dieser Formel die Teilnahme aller Zellen an der Proliferation ist.

Ein großer Teil der Urothelzellen befindet sich aber im "q - compartment" oder in der G_0 -Phase.

Die ermittelten Werte stellen dabei einen Durchschnittswert für die gut differenzierten Übergangsepithelcarcinome dar, was selbstverständlich nicht ausschließt, daß bestimmte Zellklone einen vom Mittelwert abweichenden Zyklus aufweisen. Da die zur Auswertung gelangten Transitionalzellcarcinome jedoch lichtoptisch eine weitgehend homogene Zellpopulation darstellen, ist anzunehmen, daß die festgestellten Zykluszeiten den wirklichen Verhältnissen sehr nahe kommen.

Beim Vergleich der Generationszeit und ihrer Teilphasen von Transitionalzellcarcinomen mit der Generationszeit von Transformationsstadien in Papillomen (Kunze, Schauer und Fischer 1976) ergaben sich für die morphologisch und biologisch verschiedenen Zellpopulationen nahezu identische Werte. Die geringen zeitlichen Differenzen sind dabei aller Wahrscheinlichkeit nach nicht signifikant. Dies könnte bedeuten, daß sich die atypische Urothelzelle proliferationskinetisch bereits wie eine Carcinomzelle verhält. Sehr aufschlußreich wäre in diesem Zusammenhang der Vergleich mit dem Generationszeitzyklus der normalen Harnblasenschleimhaut und dem von Papillomen. Angaben hierüber liegen jedoch nicht vor, da der Generationszeitzyklus an diesen sehr langsam proliferierenden Zellpopulationen nur sehr schwer zu ermitteln ist.

Die DNS-Synthesephase von malignen Tumoren bei kleinen Laboratoriumstieren zeigen weitgehend übereinstimmende Werte, die bei etwa 8 Stunden liegen (Zusammenfassung Lennartz 1969). Bei menschlichen Tumoren beansprucht die DNS-Synthesephase einen wesentlich längeren Zeitraum (Zusammenfassung Tubiana 1972). Diese Ergebnisse weisen darauf hin, daß die DNS-Synthesephase eine weitgehend konstante Größe ist. Das gleiche gilt für die TG_2 -Phase und die Mitosedauer (Lennartz 1969; Fry 1971). Großen Schwankungen ist dabei die prä-synthetische-postmitotische Phase TG_1 unterworfen (Quastler und Sherman 1959; Wegener 1964; Baserga 1965; Siskin 1965; Pilgrim 1965; Lennartz 1969, Fry 1971; Oehlert 1973), so daß Änderungen der Generationszeit in der Regel auf einer Verkürzung oder einer Verlängerung dieser Zyklusphase beruhen. Eine Verkürzung der Generationszeit konnte an der cancerisierten Haut der Maus festgestellt werden (Dörmer und Mitarbeiter 1964). An der gesunden Haut ergab sich dabei ein Wert von 150 Stunden, in hyperplastischen Epithelbezirken von 56 Stunden und in invasiv wachsenden Plattenepithelcarcinomen von 32 Stunden. Zu analogen Ergebnissen kommen Reiskin und Mendelsohn (1964) bei ihren Untersuchungen an der cancerisierten Backentasche des Hamsters. Die normalen Epithelien der Backentasche benötigen 142 Stunden, um den Generationszeitzyklus zu durchlaufen, während in hyperplastischen Abschnitten die Generationszeit auf 42 Stunden und im Carcinom auf 20,7 Stunden verkürzt waren. Bresciani (1968) konnte in seinen Untersuchungen an der cancerisierten Brust-

drüse der Maus eine Verkürzung des Generationszeitzyklus feststellen. Bei der unveränderten Drüsenstruktur betrug dieser 64 Stunden. In hyperplastischen Knoten trat eine Verringerung auf 41 Stunden ein und beim Carcinom wurde eine Dauer von 33 Stunden ermittelt.

Während der Cancerogenese kann es jedoch auch zu einer Verlängerung der Generationszeit kommen, wie Untersuchungen von Post, Huang und Hoffmann (1963), Post und Hoffmann (1964) gezeigt haben. Diese Autoren konnten feststellen, daß 3-Methyl-4-Dimethyl-aminoazobenzol-induzierte Hepatome bei der Ratte eine längere Generationszeit aufweisen als normale Leberzellen mit 21,5 Stunden.

Betrachtet man den Kurvenverlauf der Prozent-markierten-Mitose-Methode, so fällt der niedrige zweite Markierungsgipfel auf. Hierfür ergeben sich verschiedene Erklärungsmöglichkeiten:

1. Nach Durchlaufen des ersten Generationszeitzyklus wechselt ein großer Teil der Zellen vom "p-compartment" in das "q-compartment" über. Die Zellen, die sich nun in der G_0 -Phase befinden, nehmen für ein oder mehrere Generationszeitzyklen nicht mehr an der Proliferation teil.
2. Es ist möglich, daß ein Teil der Zellen eine besonders lange TG_1 -Phase besitzt, so daß der Generationszeitzyklus länger als 30 Stunden dauert.

In diesem Fall wäre gar nicht zu erwarten, daß die Zellen innerhalb der angewandten radioaktiven Versuchszeit in einen zweiten Zyklus eintreten.

3. Eine Anzahl von Zellen stirbt nach vollzogenem ersten Generationszeitzyklus ab. Dieser Zellverlustfaktor kann bei großen Tumoren eine wichtige Rolle spielen (Stell 1968; Dustin 1972; Denekamp 1972).
4. Falsch - negative Befunde können zur Registrierung einer zu geringen Anzahl markierter Zellen führen. Diese Verfälschung des Ergebnisses kommt vor allem dadurch zustande, daß durch die Zellteilung die Anzahl von Silberkörnern stark reduziert wird. Der Verdünnungseffekt kann so stark sein, daß eine Markierung lichtoptisch nicht mehr erkennbar ist.

Der ^3H -TdR-Index betrug in den gut differenzierten Übergangsepithelcarcinomen nach 1-stündiger radioaktiver Versuchszeit durchschnittlich 8,19 %. Die Markierung wies jedoch von Carcinom zu Carcinom innerhalb des gleichen Tumors Schwankungen auf. Dabei war zu beobachten, daß die peripheren Carcinombezirke wesentlich stärker markiert waren als die zentralen. Dieses Phänomen dürfte damit zusammenhängen, daß die Peripherie eine bessere Durchblutung besitzt (Frindel 1967; Tubiana 1971). Für diese Deutung sprechen auch die Beobachtungen von Tannock (1968), daß in der unmittelbaren Umgebung von

arteriellen Gefäßen die Anzahl von DNS-synthetisierenden Zellen besonders hoch war, wahrscheinlich bedingt durch den kürzeren Diffusionsweg des Sauerstoffes. Nach 5¹/₄-stündiger intermittierender Dauermarkierung waren 60 % aller Zellen markiert. Dieser Befund bedeutet, daß innerhalb des angewandten radioaktiven Versuchszeitraumes nicht alle Zellen an der Proliferation teilnehmen. Proliferierende Zellen werden dem "proliferating pool" oder dem "p-compartment" zugerechnet (vergl. Baserga und Kisielewski 1962; Lennartz 1969; Buchal, Phillips und Trucco 1970; Rajewski 1972). Sie können nach einer Teilung entweder sofort in einen neuen Zyklus eintreten oder in das "q-compartment" überwechseln. Im "q-compartment" (Zhinkin 1965; Tannock und Burns 1970; Rajewski 1972; Oehlert 1973) oder in der G₀-Phase bzw. der "resting period" (vergl. Epifanova und Terskikh 1969) befinden sich Zellen, die nicht am Teilungszyklus teilnehmen. Diese haben jedoch ihre Teilungsfähigkeit nicht verloren und können jederzeit nach Einwirkung bis jetzt unbekannter Stimuli wieder in das "p-compartment" übertreten.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde tierexperimentell das proliferationskinetische Verhalten vollentwickelter gut differenzierter Transitionalzellcarcinome der Harnblase untersucht. 250 weibliche Wistar-Ratten erhielten N-Butyl-N-(4-Hydroxybutyl)-Nitrosamin (20 mg/kg) täglich im Trinkwasser für 80 Tage verabreicht. Danach wurden die Tiere von der Cancerogenzufuhr abgesetzt und nach einer Gesamtversuchsdauer von 150 bzw. 250 Tagen getötet. 64 Ratten wiesen gut differenzierte Transitionalzellcarcinome auf, die autoradiographisch ausgewertet wurden. Es ergab sich, daß der ^3H -Thymidin-Markierungsindex nach 1-stündiger radioaktiver Versuchszeit durchschnittlich 8,19 % betrug. Der Mitose-Index belief sich auf 0,67 %. Nach 54-stündiger Dauermarkierung wurde ein Anteil DNS-synthetisierenden Zellen an der Gesamtpopulation von 60 % erreicht. Die mittlere Generationszeit betrug ca. 16 - 18 Stunden. Im einzelnen dauerte die DNS-Synthesephase ca. 8 Stunden und die mittlere postsynthetische-prämitotische Phase zusammen mit der Mitosedauer ($\text{TG}_2 + \text{TM}$) ca. 2 - 3 Stunden. Daraus errechnete sich eine Dauer von ca. 6 - 7 Stunden für die postmitotische-präsynthetische Phase (TG_1). Nahezu identische Werte konnten von anderen Autoren für atypische Urothelzellbezirke und Carcinomata in situ innerhalb von Papillomen während der malignen Entartung ermittelt werden. Eine Generationszeitverkürzung,

wie sie von anderen Cancerisierungsmodellen her bekannt ist, konnte somit bei der Entwicklung von Transitionalzellcarcinomen in der Harnblase nicht beobachtet werden. Aufgrund dieser Befunde kann vermutet werden, daß sich die "transformierten" Urothelzellen in Atypien und Carcinomata in situ proliferationskinetisch bereits wie Carcinomzellen verhalten.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

BASERGA, R.: The relationship of the cell cycle to tumor growth and control of cell division: A review
Cancer research 25, 581 (1965)

BASERGA, R. and W. KISIELESKI: Comparative study of the kinetics of cellular proliferation of normal and tumorous tissues with the use of tritiated thymidine. I. Dilution of the label and migration of labeled cells

J. of the Nat. Canc. Inst. 28, 331 (1962)

BATTIFLORA, H.A., EISTENSTEIN, R., Sky-Peck, H.H. et al.: Electron microscopy and tritiated thymidine in gradation of malignancy of human bladder carcinomas.
J. Urol. 93, 217 (1965)

BRESCIANI, F.: Cell proliferation in cancer
European J. Cancer 4, 343 (1968)

BUCHAL, R., D. PHILLIPS and E. TRUCCO: Area relations between labelling index curves from multicompartiment cell kinetics models
Cell Tissue Kinet. 3, 67 (1970)

CAMPOBASSO, O. and F. BERRINO: Early effects of cyclophosphamide on mouse bladder epithelium
Path. Microbiol. 38, 144 (1972)

CLAYSON, D.B. and E.H. COOPER: Cancer of the urinary tract. Advanc.

Cancer Research 13, 271 (1970)

DENEKAMP, J.: The relationship between cell loss factor and the immediate response to radiation in animal tumours

Europ. J. Cancer 8, 335 (1972)

DÖRMER, P., H. TULINIUS and W. OEHLERT: Untersuchungen über die Generationszeit, DNS-Syntheszeit und Mitosedauer von Zellen der hyperplastischen Epidermis und des Plattenepithelcarcinoms der Maus nach Methylcholanthrenpinselung

Z. Krebsforschung 66, 11 (1964)

DUSTIN, P.: Cell differentiation and carcinogenesis: A critical review

Cell Tissue Kinet. 5, 519 (1972)

EPIFANOVA, O. and V.V. TERSIKIKH: On the resting periods in the cell life cycle

Cell Tissue Kinet. 2, 75 (1969)

FABRIKANT, J., M. VITAK and Ch. WISSEMAN: The kinetics of cellular proliferation in normal and malignant tissues nucleic acid metabolism in relation to the cell cycle in human tissues

Growth 36, 173 (1972)

FRINDEL, E., MALAISE, E. ALPEN and M. TUBIANA:
Kinetics of cell proliferation of an experimental
tumor

Cancer Research 27, 1122 (1967)

FRY, R., M. GRIEM and W. KIRSTEN: Normal and
malignant cell growth

Resent results in cancer research

Springer-Verlag New York (1971)

KOSS, L.G.: A light and electron microscopic study
of the effects of a single dose of cyclophosphamide
on various organs in the rat. I. The urinary bladder
Lab. Invest. 16, 44 (1967)

KUNZE, E. und A. SCHAUER: Enzymhistochemische und
autoradiographische Untersuchungen an Dibutylnitro-
samin-induzierten Harnblasenpapillomen der Ratte
Z. Krebsforschung 75, 146 (1971)

E. KUNZE, A. SCHAUER, and G. KRÜSMANN: Focal loss
of alkaline phosphatase and increase of proliferation
in preneoplastic areas of the rat urothelium after
administration of n-butyl-n-(4-hydroxybutyl)-nitro-
samine and n- [4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]
formamide

Z. Krebsforschung 84, 143 (1975)

KUNZE, E., A. SCHAUER und S. SCHATT: Proliferations-
aktivität in Transformationsstadien von Papillomen
der Rattenharnblase

(in Vorbereitung)

KUNZE, E., A. SCHAUER und S. SCHATT: Stages of trans-
formation in the development of n-butyl-n-(4-hydroxy-
butyl)-nitrosamine induced transitional cell carci-
nomas in the urinary bladder of rats

(im Druck)

KUNZE, E., A. SCHAUER und N. FISCHER: Generations-
zeitzyklus in Transformationsstadien von Papillomen
der Rattenharnblase

(in Vorbereitung)

LEBLOND, C.P., M. VULPE and F.D. BERTALANFFY:
Mitotic activity of epithelium of urinary bladder
in albino rat

J. Urol. 43, 311 (1955)

LENNARTZ, K.J.: Proliferationskinetik von Tumor-
zellen

Fortschritte der Krebsforschung

Schattauer-Verlag, Stuttgart - New York (1969)

LEVI, P., D. COWEN and E. COOPER: Induction of cell
proliferation in the mouse bladder by 4-ethylsul-
phonyl-naphthalene-1 sulphonamide

Cell Tissue Kinet. 2, 249 (1969)

LOCHER, G.W. and E.H. COOPER: Repair of rat urinary bladder epithelium following injury by cyclophosphamide

Invest. Urol. 8, 116 (1970)

MESSIER, B. and C.P. LEBLOND: Cell proliferation and migration as revealed by radioautography after injection of thymidine -H³ into male rats and mice

American Journal of Anatomy 106, 247 (1960)

MIYAKAWA, M. and O. YOSHIDA: DNA synthesis of the urinary bladder epithelium in rats with long-term feeding of dl-tryptophan - added and pyridoxine-deficient diet.

Gann 64, 411 (1973)

NETTESHEIM, P. and OEHLERT, W.: Die Wirkung des Wachstumshormons auf die Desoxyribonukleinsäure - Synthese in den Wechselgeweben der weißen Maus

Beitr. Path. Anat. 126, 395 (1962)

OEHLERT, W.: Cellular proliferation in carcinogenesis

Cell Tissue Kinet. 6, 325 (1973)

PILGRIM, Ch. und W. MAURER: Autoradiographische Untersuchung über die Konstanz der DNS-Verdopplungsdauer bei Zellarten von Maus und Ratte durch Doppelmarkierung mit H³ und C¹⁴-Thymidin

Exptl. Cell Res. 37, 183 (1965)

POST, J. and J. HOFFMANN: The replication time and pattern of carcinogen - induced hepatoma cells

Journal of Cell Biology 22, 341 (1964)

POST, J., C. HUANG and J. HOFFMANN: The replication time pattern of the liver cell in the growing rat

Journal of Cell Biology 18, 1 (1963)

QUASTLER, H. and F.G. SHERMAN: Cell population kinetics in the intestinal epithelium of the mouse

Exp. Cell Research 17, 420 (1959)

RAJEWSKY, M.F.: Proliferative parameters of mammalian cell systems and their role in tumor growth and carcinogenesis

Z. Krebsforschung 78, 12 (1972)

REGELE, H. and C. LUNGLMAYR: Zur Wachstumsdynamik des Übergangs-Epithels

Virchows Arch. Abt. B. Zellpath. 2, 229 (1969)

REISKIN, A. and M. MENDELSON: A Comparison of the cell cycle in induced carcinomas und their normal counterpart

Cancer Research 24, 1131 (1964)

SCHREIBER, H., W. OEHLERT und K. KUGLER: Regeneration und Proliferationskinetik des normalen und strahlengeschädigten Urothels der Ratte

Virchows Arch. Abt. B. Zellpathologie 4, 30 (1969)

SISKEN, J. and Ph. MORASCA: Intrapopulation kinetics of the mitotic cycle

J. Cell Biology 25, 179 (1965)

STEEL, G.: Cell loss from experimental tumours

Cell Tissue Kinet. 1, 193 (1968)

TANNOCK, I.: The relation between cell proliferation and the vascular system in a transplanted mouse mammary tumour

British Journal of Cancer 22, 258 (1968)

TUBIANA, M.: The kinetics of tumour cell proliferation and radiotherapy

British Journal of Radiology 44, 325 (1971)

TUCCI, P. and G. HARALAMBIDIS: Regeneration of the bladder: review of literature and case report

J. Urol. 90, 193 (1963)

VAHLENSIECK, W.: Zur sogenannten "Offenen Regeneration" nach subtotaler Harnblasenresektion bzw. Zytoprostatektomie

Zeitschrift für Urologie 64, 491 (1971)

WALKER, B.E.: Radiographic observations on regeneration of transitional epithelium

Texas Rep. Biol. Med. 17, 375 (1969)

WEGENER, K., S. HOLLWEG und W. MAURER: Autoradiographische Bestimmung der DNS-Verdopplungszeit anderer Teil-Phasen des Zellzyklus bei fetalen Zellarten der Ratte

Zeitschrift für Zellforschung 63, 309 (1964)

ZHINKIN, L.: DNA synthesis and kinetics of cell populations in development

Cell Differentiation and Induction Mechanisms

(Ed. by G. Lopashov, A. Meyfakh and O. Stroere)
233, (1965)

Herrn Professor Dr. A. S c h a u e r danke ich
für die Überlassung des Themas und für die guten
Arbeitsmöglichkeiten in seinem Labor.

Herrn Privatdozent Dr. E. K u n z e möchte ich
danken, daß er mir jederzeit mit Rat und Tat hilf-
reich zur Seite stand.

Ebenso möchte ich mich bei Frau Polt für die freund-
liche Zusammenarbeit bedanken.

LEBENS LAUF

Am 30. April 1945 wurde ich als Sohn des Arztes Dr. Ulrich Mayr und seiner Frau Anna geb. Haselberger, in Aichach geboren.

Von 1951 bis 1956 besuchte ich die Volksschule in Augsburg und in Pfronten. Im September 1956 trat ich in das Humanistische Gymnasium St. Stephan in Augsburg ein. Im Nymphenburger Gymnasium in München legte ich 1967 die Reifeprüfung ab. Im gleichen Jahr begann ich an der Universität München das Medizinstudium, das ich 1973 mit dem medizinischen Staatsexamen abschloß.

Als Medizinalassistent war ich vom 1.9.1973 bis 31.8.1974 am Pathologischen Institut der Universität München und am Krankenhaus St. Vinzenz in Pfronten tätig. Am 9.10.1974 erhielt ich die Approbation. Bis zu meiner Einberufung zur Bundeswehr am 1.1.1975 war ich als Assistenzarzt auf der chirurgischen Abteilung des Krankenhauses St. Vinzenz in Pfronten beschäftigt.

